

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-287139

(43)Date of publication of application : 11.10.1994

(51)Int.Cl.

A61K 31/375
A61K 9/06
A61K 9/08
A61K 9/20
// C07D307/62

(21)Application number : 06-010329

(71)Applicant : TAKEDA CHEM IND LTD
SENJU PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 01.02.1994

(72)Inventor : KATOU KANEYOSHI
KURIYAMA YUTAKA
NAKA HIROSUKE

(30)Priority

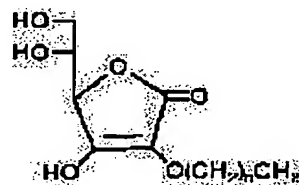
Priority number : 05 15645 Priority date : 02.02.1993 Priority country : JP

(54) AGENT FOR PREVENTION AND TREATMENT OF RETINOPATHY

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an agent for the prevention and treatment of retinopathy, containing a specific ascorbic acid derivative as an active component and exhibiting excellent antioxidation action and suppressing action on light-induced retinopathy.

CONSTITUTION: The agent for the treatment of retinopathy contains a compound of formula (n is integer of 8-20) (especially preferably 2-O-octadecylascorbic acid, etc.) as an active component. The agent is effective for retinopathy caused by systemic diseases such as diabetes, hypertension, anemia, leukemia, systemic lupus erythematoses, pachyderma, Tay-Sachs disease and Vogt-Spielmeyer disease and also for local retinal diseases such as retinopathy of prematurity, occlusion of retinal vein, occlusion of retinal artery, periphlebitis retinae, ablation of retina and senile disciform macular degeneration. The agent is administered in the form of an agent for peroral administration (especially preferably tablet), eye drop, eye ointment, etc.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than
the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

*** NOTICES ***

JPO and NCIP1 are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention relates to prevention and the therapy agent of a retina disease.

[0002]

[Description of the Prior Art] There are various things in a retina disease with the cause of a disease and an onset format. As an example of these retina diseases, for example Diabetes mellitus, hypertension, arteriosclerosis, Connective tissue disorders, such as anemia, leukemia, systemic lupus erythematosus, and a scleroderma, And inborn errors of metabolism, such as a tee-Sachs (Tay-Sacks) disease and a FOKUTO-SHUPIRU Mayer (Vogt-Spielmeyer) disease, etc., In the failure of the vasa sanguinea retinae resulting from a whole body disease, inflammatory and a denaturation lesion, and a row Diseases of a retina part, such as a denaturation disease of the retina accompanying aging, such as inflammation of the retina originating in the failure, the amotio retinae, and the trauma of vasa sanguinea retinae, such as retinopathy of prematurity, occlusion of retinal vein, retinal artery obstruction, and periphlebitis retinae, and denaturation and gerontomorphic disc-like macular degeneration, and a native retina denaturation disease, are mentioned.

[0003] Explanation is added to below about a typical thing in these retina diseases. First, the diabetic retinopathy is regarded in the retina disease resulting from a whole body disease as one of the diabetics microangiopathy which are diabetic critical complication. In early stages, a capillary aneurysma, petechial hemorrhage, the cotton-wool patches by microvessel lock out, a retina edema, hard white exudate by blood-vessel-permeability sthenia, etc. are accepted soon, when a symptom progresses, the fecundity change accompanied by the vascularization is shown, amotio retinae occurs in the last stage by towage of the connective tissue increased in the vitreous body, and the iris rubeosis and neovascular glaucoma are further resulted in lifting loss of eyesight.

[0004] In a hypertension patient's retina, the edema of ****-izing of an arteriole, bleeding, exudation spots, a retina, and the optic disk etc. is accepted as a hypertensive change, and **** of hardening of an arteriole, an arteriovenous crossing phenomenon, and an artery, a caliber variation, etc. are accepted as hardenability change.

[0005] As a retina lesion in leukemia, infiltration to a remarkable expansion and the vein perimeter of a retinal vein, and the various magnitude centering on near the posterior pole section and formal bleeding are accepted, and, otherwise, tubercular facula, the cotton-wool patches by thin smallness vascular occlusion, and a retina edema are seen.

[0006] Although systemic lupus erythematosus is one of the autoimmune diseases to which a lesion appears in the whole body, such as a rash and acute nephritis, in a retina, the cotton-wool patches near a posterior pole and disseminated retianl hemorrhage may be seen, and the inflammation of the optic nerve fiber papilledema or a periphery blood vessel may be accepted in others.

[0007] In inborn errors of metabolism, such as a tee-Sachs (Tay-Sacks) disease and a FOKUTO-SHUPIRU Mayer (Vogt-Spielmeyer) disease, an eye symptom may be shown with the

constitutional symptom, and as a symptom of a retina, a cherry red Mr. red spot (cherry red spot) and a coloring matter nature lesion are typical, and, otherwise, may join atrophía nervi optici.

[0008] Next, occlusion of retinal vein has lock out of the vena centralis retinae, and lock out of retinal vein branching by the lock out part in the disease of a retina part. In main venous occlusion, the optic disk is congested, an edema is caused and an ecchymosis is often seen in a mammary-papilla side. A retina presents the shape of an edema and cotton-wool patches appear soon. In branch occlusion, bleeding of a radial is seen to a distribution field and a retina edema and cotton-wool patches appear.

[0009] Retinal artery obstruction also has lock out of an central artery of retina, and lock out of retinal artery branching. If lock out of an artery takes place, a retina will become muddy slightly soon and retina turbidity of opalescence and edema nature will be seen in several hours. In 20 – 30 minutes after lock out, it becomes irreversible, and the above-mentioned turbidity disappears in several weeks, and a retina inner layer is replaced in a transparent gloea organization. In addition, the symptoms of the condition pulse obstruction of these retinas may be shown based on the hypertension and arteriosclerosis as a whole body disease.

[0010] Periphlebitis retinae are the inflammatory diseases which happen to a retinal vein peripheral branch, and accept the views on expansion of a vein, crookedness, aperture agitation, the perimeter exudation spots of a blood vessel, bleeding, the vascularization, etc.

[0011] Retinopathy of prematurity is a disease which the irreversible lock out accompanied by endothelial cell growth takes place, and causes the vascularization and amotio retinae to ***** soon as a result of holding the baby who gave birth as a premature baby into a complete rebreathing system incubator and being exposed to high-concentration oxygen.

[0012] Amotio retinae is a disease which a feeling retina and a retinal pigment epithelium separate. There are rehgmatoogenous retinal detachment which considers lyrifissure of a retina as a cause, and secondary amotio retinae which happens as its result during progress of other diseases in this. If such amotio retinae is not early treated by surgical operations, such as photocoagulation, it will cause the denaturation of a retina and will lose eyesight.

[0013] In senile disc-like *****, in the yellow spot section, there is vascularization to the bottom of a retinal pigment epithelium over the BURUFU (Bruch) film from a choroid, it increases and neovascularity trespasses also upon under a retina. Retinal-pigment-epithelium exfoliation and disc-like exfoliation of an yellow spot section retina are caused by serosity exsorption from these blood vessels. Repeating bleeding focusing on the focus containing neovascularity, the focus cicatrizes gradually.

[0014] A childhood term is attacked with congenital degeneratio pigmentosa retinae, it is aware of hemeralopia, and tunnel vision and a low vision advance gradually. the description of eyegrounds change — coloring matter venereal disease queerness, the yellow atrophy of the optic disk, and the vasa sanguinea retinae — things — an artery — **** — it is-izing.

[0015] As a cure to many diseases of the retina mentioned above, things for which the causal treatment in the whole body is applied first, such as administration of a blood sugar depressant, can be considered to a hypotensor and diabetes mellitus with the retina disease resulting from a whole body disease to hypertension, for example. However, the lesion in a retina does not necessarily carry out remission only by it. Furthermore, with an autoimmune disease or a congenital metabolic error disease, a causal treatment is sometimes very difficult or impossible. Then, although the therapy for the lesion of a retina part is also needed, pharmacotherapy, such as vasodepressor, and a blood vessel wall reinforcement or a thrombolytic agent, is applied in that case to the vascular lesion of the retina in diabetes mellitus, hypertension, or occlusion of retinal vein and retinal artery obstruction. However, it is symptomatic therapy-like [such pharmacotherapy], and is not decisive, and the present condition is often depending on the surgical operation.

[0016]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] Thus, the present condition is that there is no still decisive thing in prevention and the therapy agent of each above-mentioned retina disease. Then, in view of such the present condition, this invention person etc. repeated research

wholeheartedly in quest of prevention and the therapy agent of each above-mentioned retina disease.

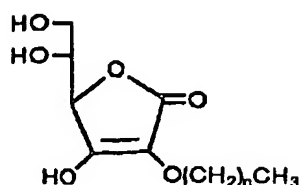
[0017] Although the clinical picture of a retina disease is variegated as seen above, there is denaturation of inflammation, such as a failure of the vasa sanguinea retinae and an edema of the vascularization and a retina, and the retina which happens still primary-wise and secondarily etc., and it can say that all bring about the failure of a retina function to some extent. Then, this invention person etc. advanced research from following two viewpoints. That is, it is the point whether the superfluous light itself is one of the risk factor of each of these retina diseases in view of the particulars of whether the ischemia, the hypoxia condition, and the peroxidation reaction caused from there are participating in the onset of each above-mentioned retina disease, or the base of symptom advance first, and the retina function in which vision is demonstrated by acceptance of light next.

[0018] About the 1st viewpoint, the opinion that the vascular lesion in a diabetic retinopathy is a reaction to the hypoxia or the ischemia condition of an organization is becoming leading in recent years, for example. Moreover, there is also a report (325 Ishikawa **** Masayuki Oshitari et al.: ischemia retinae and (Peroxy lipid I) **** 28(2):321- in diabetic retinopathy 1977) that the peroxy lipid in a patient's blood serum went up by the peroxidation reaction considered to have been caused by the ischemia. Moreover, lock out of a retina condition pulse is also the ischemia, and it is thought that the peroxidation reaction is involving also in this case. About the 2nd viewpoint for example, report (Dowling, Jay I (Dowling, J.E.) and Cyd Mann, and Earl El (Sidman, R.L.) —) that advance of denaturation was controlled by intercepting light and breeding the rat which causes hereditary retina denaturation the hereditary retina denaturation (inherited retinal dystrophy in the rat) in a rat, journal OBU cel biology (J.Cell Biol.), and 14:73- there are 109 and 1962. Although a retina denaturalizes since abnormalities are in the phagocytosis function of the retinal-pigment-epithelium cell which updates the outer segment of a retina visual cell with visual performance in the case of this rat, where the balance of such metabolism is torn, it is shown that the light itself promotes destruction of a visual cell. moreover, report (a SHAHIN fur and S (Shahinfar, S.) —) that retina denaturation took place by strong optical exposure also in the normal animal Edward, Dee Py (it Edward(s)) D.P. and TSUO, Ore em (it Tso(es)) O.M. : Pathological research of the photoreceptor cell death in retina optical damage (A pathologic study of photoreceptor cell death in retinal photic injury), car RENTO eye research (Curr.Eye Res.) 10(1):47- there are 59 and 1991 and a superfluous light can be said to be one of the risk factor of a retina disease.

[0019] By the way, the following reports are made recently. Namely, the report of a purport whose composition of a derivative and this derivative which have a substituent in the 2nd place of an ascorbic acid have an antioxidation operation (refer to Europe public presentation patent official report No. 0146121), The report of a purport this whose ascorbic-acid derivative has circulatory system improvement effects, such as anti-arrhythmia, anti-myocardial infarction, anti-cerebral infarction, and senile dementia prevention, based on the free radical elimination operation (refer to Europe public presentation patent official report No. 0202589), And some above-mentioned ascorbic-acid derivatives are the reports (refer to JP,63-301818,A) of a purport which have a cataract curative effect and added examination also about the bioavailability and pharmaceutical preparation.

[0020]

[Means for Solving the Problem] Then, the compound with which this invention person etc. suppresses [1st] the peroxidation reaction of a retina from two above viewpoints, The result of 2nd having looked for various compounds in quest of the compound which controls the retinopathy by light, It came to complete a header and this invention for the compound which has both the above-mentioned operations that were excellent out of anticipation being contained in the above-mentioned Europe public presentation patent official report No. 0146121 and the compound of the No. [0202589] publication. This invention is (1) general-formula (I): [0021]. [Formula 2]



(1)

[0022] The compound expressed with (n shows the integers from 8 to 20 among a formula) The retina disease therapy agent characterized by containing (it may be hereafter called this compound for short), (2) The therapy agent of the above-mentioned (1) publication whose dosage forms of a retina disease therapy agent are internal use agents, (3) The therapy agent of the above-mentioned (1) publication whose dosage forms of a retina disease therapy agent are tablets, (4) The therapy agent of the above-mentioned (1) publication whose dosage forms of a retina disease therapy agent are ophthalmic solutions, (5) The therapy agent of the above-mentioned (1) publication whose dosage forms of a retina disease therapy agent are ophthalmic ointments, (6) The therapy agent of the above-mentioned (1) publication whose n is 9 to 17 in a general formula (I), (7) The therapy agent of the above-mentioned (6) publication whose n is 17 in a general formula (1), (8) The therapy agent of the above-mentioned (1) publication which is the retina disease to which a retina disease originates in a whole body disease, (9) A whole body disease Diabetes mellitus, hypertension, anemia, leukemia, systemic lupus erythematosus, The therapy agent of the above-mentioned (8) publication which is one disease chosen from a scleroderma, a Tay-Sachs disease, and a FOKUTO-SHUPIRU Mayer disease, (10) The therapy agent of the above-mentioned (1) publication whose retina disease is a disease of a retina part, And the disease of (11) retina parts is related with the therapy agent of the above-mentioned (10) publication which is one disease chosen from retinopathy of prematurity, occlusion of retinal vein, retinal artery obstruction, periphlebitis retinae, amotio retinae, and senile disc-like macular degeneration.

[0023] As an integer expressed with n about this compound, it is desirable that it is 9-17, and it is desirable that it is especially 17. Moreover, although any of D object, L bodies, and such mixture are sufficient, L bodies are especially desirable.

[0024] in addition, this compound is physicochemical — description and its manufacturing method are indicated by the aforementioned Europe public presentation patent official report No. 0146121 at the detail. Moreover, since toxicity is very low as this compound is shown by the example 3 of the following trial, the retina disease therapy agent offered by this invention is safe.

[0025] the case where this compound is used as a retina disease therapy agent — the support well-known, usually in itself permitted in pharmacology, an allocated type agent, a diluent, etc. — mixing — the very thing — according to a well-known approach, it can prescribe for the patient in taking orally (for example, a tablet, a capsule, a granule, etc.) or parenterally as various kinds of physic constituents (for example, ophthalmic solutions, ophthalmic ointments, injections, etc.).

[0026] For example, in internal use, 10-500mg 50-250mg is usually preferably performed for an adult 1 sunny book compound as a tablet. A tablet is manufactured in the following process. This compound is first granulated with itself or diluents (lactose etc.), a binder, and disintegrator and other additives (potatostarch etc.) (syrup, gum arabic, gelatin, a sorbitol, tragacanth, polyvinyl pyrrolidone, etc.). Lubricant (magnesium stearate, talc, a polyethylene glycol, silica, etc.) is added to the granulation obtained, and it tablets in a desired form and magnitude.

[0027] This compound itself, the above-mentioned mixture, or wetting agents (sodium lauryl sulfate etc.) are fabricated into granulation, and the above-mentioned granulation dries and manufactures them into it. Each administration gestalt of this invention may contain the physiological active substance of further others.

[0028] Moreover, when using this compound as ophthalmic solutions, about 0.001 to 3% (W/V), about 0.01 - 1% (W/V) of this compound is preferably added to a basis solvent, and it considers as a water solution or suspension. pH of ophthalmic solutions — about 4-10 — it adjusts to about 5-9 preferably.

[0029] Since the ophthalmic solutions of this invention are used as a sterile final product,

sterilization processing of them can be carried out. Sterilization processing can be performed in any processes of the manufacture process of ophthalmic solutions. In administration, it applies eyewash each in several drops 1 to 4 times per day according to a patient's condition.

[0030] In the ophthalmic solutions of this invention, a buffer (for example, a phosphate buffer, a borate buffer, a citrate buffer, a tartaric-acid buffer, an acetate buffer, amino acid, etc.), an isotonicizing agent (for example, saccharides, such as a sorbitol, a glucose, and a mannitol, —) Polyhydric alcohol, such as a glycerol, a polyethylene glycol, and propylene glycol antiseptics (for example, p-hydroxybenzoic esters, such as a benzalkonium chloride, benzethonium chloride, methyl parahydroxybenzoate, and ethyl p-hydroxybenzoate, —), such as salts, such as a sodium chloride Benzyl alcohol, phenethyl alcohol, a sorbic acid, or its salt, pH regulators, such as a thimerosal and chlorobutanol (for example, a hydrochloric acid, an acetic acid, a phosphoric acid, a sodium hydroxide, etc.), A thickener (for example, hydroxyethyl cellulose, hydroxypropylcellulose, methyl cellulose, the hydroxypropyl methylcellulose, a carboxymethyl cellulose, its salt, etc.), Various additives (for example, ethanol, polyoxyethylene hydrogenated castor oil, polysorbate 80, macrogol 4000, etc.), such as chelating agents (for example, disodium edetate, a sodium citrate, condensed-phosphoric-acid sodium, etc.) and a solubilizing agent, may be added suitably.

[0031] Moreover, the usual eye ointment basis and about 0.001 – 3% (W/W) of concentration, when using this compound as ophthalmic ointments, it mixes and this compound is manufactured so that it may become about 0.01 – 1% (W/W) preferably. In manufacture of an eye ointment, it is desirable to include a powder chemically-modified [of this compound] degree and the sterilization process of pharmaceutical preparation. An eye ointment is prescribed for the patient 1 to 4 times per day according to a patient's condition.

[0032] As an eye ointment base, purified lanolin, white vaseline, macro gall, Plastibase, a liquid paraffin, etc. are especially used suitably.

[0033] Unless it is contrary to the purpose of this invention, one sort of the retina disease therapy agent of further others or two sorts or more may be suitably added to the retina disease therapy agent of this invention.

[0034] Moreover, the retina disease therapy agent of this invention may be made to contain suitably the component which has other drug effect other than the above-mentioned therapy agent unless it is contrary to the purpose of this invention.

[0035] Since the retina disease therapy agent of this invention has the retinopathy depressant action by the outstanding antioxidation operation and light so that more clearly than the example of a trial mentioned later Various retina diseases, for example, diabetes mellitus, hypertension, arteriosclerosis, anemia, Inborn errors of metabolism, such as connective tissue disorders, such as leukemia, systemic lupus erythematosus, and a scleroderma, and a tee-Sachs (Tay-Sacks) disease, and a FOKUTO-SHUPIRU Mayer (Vogt-Spielmeyer) disease, etc., In the angiopathy of the retina resulting from a whole body disease, inflammatory and a denaturation lesion, and a row The failure of vasa sanguinea retinae, such as retinopathy of prematurity, occlusion of retinal vein, retinal artery obstruction, and periphlebitis retinae, It can use as drugs effective in prevention and the therapies of the disease of a retina part, such as a denaturation disease of the retina accompanying aging, such as inflammation of the retina originating in amotio retinae or a trauma, and denaturation and gerontomorphic disc-like macular degeneration, and a native retina denaturation disease.

[0036] Although an example is given to below, this invention is further explained to a detail and effectiveness of this invention is clarified by the example of a trial, these are mere instantiation and the range of this invention is not limited by these.

[0037]

[Example]

Example 1 Tablet 2-O-octadecilascorbic acid 50 g Corn starch 90 g Lactose 25 g Hydroxypropylcellulose 25 g Magnesium stearate 5 g Total 195 g [0038] Corn-starch 90g, lactose 25g, and hydroxypropylcellulose 25g were added and granulated to 50g of 2-O-octadecilascorbic acid, magnesium stearate 5g was added and tableted, and the tablet was obtained. One to 3 lock will be taken after every meal per adult for one day.

[0039]**Example 2 Ophthalmic solutions (W/V %)**

2-O-octadecilascorbic acid 0.1 Boric acid 1.7 Borax 0.4 Disodium edetate 0.02 Benzalkonium chloride 0.005 Sterile purified water Whole quantity 100.0 [0040] 17g of boric acids, 4g of boraxes, 0.2g of disodium edetate, and 0.05g of benzalkonium chlorides were melted to 800ml of sterile purified water, 1g of 2-O-octadecilascorbic acid was added to the pan, and it considered as the water solution. the eye drop bottle after adding sterile purified water and filtering as 1000ml of the whole quantity — being filled up — instillation — service water — it considered as the solution.

[0041]**Example 3 Suspension ophthalmic solutions (W/V %)**

2-O-octadecilascorbic acid 1.0 Polyvinyl alcohol 0.5 Phosphoric-acid 1 hydrogen sodium (12 monohydrates) 0.5 Sodium dihydrogen phosphate (two monohydrates) 0.2 Disodium edetate 0.02 Sodium chloride 0.7 Benzalkonium chloride 0.007 Sterile purified water Whole quantity 100.0 [0042] Polyvinyl alcohol 5g, phosphoric-acid 1 hydrogen sodium 5g, 2g of sodium dihydrogen phosphate, 0.2g of disodium edetate, and 7g of sodium chlorides were dissolved in 800ml of sterile purified water, and sterilization filtration was carried out. 10g of 2-O-octadecilascorbic acid and 0.07g of benzalkonium chlorides were added to this solution under the sterile condition, the bottom sterile purified water of stirring was added, and it considered as 1000ml of whole quantity. The eye drop bottle was filled up with the obtained suspension, and it considered as suspension ophthalmic solutions.

[0043]**Example 4 Ophthalmic ointments (W/W %)**

2-O-octadecilascorbic acid 0.5 Liquid paraffin 1.0 White vaseline Whole quantity 100.0 [0044] 0.5g of 2-O-octadecilascorbic acid was often mixed with 1g of liquid paraffins with the mortar under the sterile condition, and in addition, it considered as 100g of whole quantity gradually, kneading white vaseline. Distribution restoration of what was obtained was carried out at the tube, and ophthalmic ointments were obtained.

[0045] The antioxidation effectiveness of the 2-O-octadecilascorbic acid to the peroxidation reaction caused by adding ferrous chloride to the in vitro (inch vitro) trial cow retina homogenate using (Examination A) cow retina homogenate of the effectiveness over the retina peroxidation reaction by the iron ion of example of trial 12-O-octadecilascorbic acid was examined.

[0046] (Approach)

(1) The retina was separated from the eyeball (1/2 eye) of a cow, a physiological salt solution was added to this, and the retina homogenate was produced.

(2) To the retina homogenate produced above (1), ferrous chloride (it dissolves with 0.5mM and distilled water), 2-O-octadecilascorbic acid, and the alpha-tocopherol were added so that the last concentration of reaction mixture might be set to 10⁻⁴M, and the whole quantity was set to 1ml with distilled water. In addition, 2-O-octadecilascorbic acid and the alpha-tocopherol were dissolved and diluted with ethanol, and the ethanol concentration in all reaction mixture was adjusted so that 1% of last might come. Then, it was under water bath for 1 hour, and was made to react at 37 degrees C.

(3) 1ml (50% acetic-acid water solution) of thiobarbituric acid (it is hereafter called TBA for short.) reagents was added to the reaction mixture or the standard solution of a retina homogenate produced above (2) 0.35%, and it was made to react to it by 100-degree-C ebullition underwater for 1 hour. n-butanol 2ml was added after water cooling, the at-long-intervals alignment was carried out by after [shaking] 3000rpm for 5 minutes for 10 minutes, and fluorescence intensity (excitation wavelength of 515nm, measurement wavelength of 553nm) was measured about n-butanol layer. Moreover, protein determination was performed using the Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad proteinassay Kit) (trade name).

(Result) The result is shown in Table 1.

[0047]**[Table 1]**

		網膜: T B A 反応値 (nM マロンジアルデヒド /mg 蛋白)	抑制率 (%)
ブランク(1%エタノール)		0.34 ± 0.01 (2)	100
塩化第1鉄(対照)		5.65 ± 0.13 (3)	0
2-O-オクタデシ ルアスコルビン酸	10 ⁻⁴ M	0.61 ± 0.04 (3) *	94.9
α-トコフェロール	10 ⁻⁴ M	2.38 ± 0.12 (3) *	61.6

[0048] (Note) each value of the inside of the above-mentioned table, and a "retina:TBA reaction value" — average ** standard deviation — moreover, the figure in subsequent () shows the number of examples. Moreover, it means that * has a significant difference to contrast. $p < 0.001$.

[0049] The TBA reaction value increased by about 17 times by adding ferrous chloride to a cow retina homogenate compared with the blank so that more clearly than the result shown in Table 1. When 2-O-octadecilascorbic acid was made to add and react to coincidence, it is the low concentration of 10⁻⁴M, and the peroxidation depressant action of the markedly excellent retina homogenate was shown as compared with the alpha-tocopherol.

[0050] (B) The antioxidation effectiveness of internal use of 2-O-octadecilascorbic acid suspension (30mg/(kg)) over the peroxidation reaction of the retina caused by pouring in a ferrous sulfate into the vitreous body of the evaluation rat by the in vivo (inch vivo) trial (B-1) retina TBA reaction value by the iron ion implantation in a rat vitreous body was examined.

[0051] (Approach) The Sprague-Dawley rat of seven-week ** made to abstain from food from the previous day was divided into two groups, and 2 ml/kg was administered orally to one group for 1.5%2-O-octadecilascorbic acid suspension (30 mg/kg) in 3 steps for a gum arabic solution (contrast) at two groups, respectively 5%. General anesthesia of the rat was carried out with hydrochloric-acid Ketalar 2 hours after the 1st administration, the micro syringe was used for the right eye for a physiological salt solution every [5micro / l], respectively, and 5mM ferrous-sulfate solution was injected into the left eye into the vitreous body. 2-O-octadecilascorbic acid suspension or 5% gum arabic solution was again prescribed for the patient 1 or 4 hours after impregnation, and it slaughtered 2 hours after the 3rd administration (6 hours after an iron ion implantation). Next, the retina homogenate was prepared from each eye after extracting an eyeball, and the amount of TBA reaction and the amount of proteins were measured.

(Result) The result is shown in Table 2.

[0052]

[Table 2]

	網膜: T B A 反応値 (nM マロンジアルデヒド/mg 蛋白)	
	右 眼	左 眼
アラビアゴム溶液 (対照)	0.48 ± 0.14 (5)	0.65 ± 0.06 (5)
1.5%2-O-オクタデ シルアスコルビン酸懸濁液	0.36 ± 0.06 (6)	0.47 ± 0.11 (6) *

[0053] (Note) each value of the inside of the above-mentioned table, and a "retina:TBA reaction value" -- average ** standard deviation -- moreover, the figure in subsequent () shows the number of examples. Moreover, it means that * has a significant difference to contrast. $p < 0.01$.

[0054] Internal use of 1.5% 2-O-octadecilascorbic acid suspension (30 mg/kg) controlled intentionally the increment in the TBA reaction value in the retina by the iron ion implantation in a vitreous body so that more clearly than the result shown in Table 2. By 5 in-its-eyes 2 eye of the infusion of isotonic saline solution of 5% gum arabic solution administration group, a lot of vitreous body internal hemorrhage considered to have been generated during impregnation actuation was accepted, and those TBA reaction values showed the high value compared with other infusion-of-isotonic-saline-solution eyes.

[0055] (B-2) Electroretinogram (Electroretinogram.) Hereafter, it is called ERG for short. The effectiveness of internal use of the 2-O-octadecilascorbic acid (30 mg/kg) to change of the retina ERG caused by pouring a ferrous sulfate into the vitreous body of the evaluation rat by measurement was examined.

[0056] (Approach) Twelve Sprague-Dawley rats of seven-week ** were made to abstain from food from the previous day, and the 7.5mM ferrous-sulfate solution was injected into the left eye into 5microl vitreous body. 1.5% 2-O-octadecilascorbic acid suspension (30 mg/kg) or 5% gum arabic solution (contrast) performed 1st internal use 2 hours before the iron ion implantation, and it was prescribed for the patient 3 times every 3 hours after that, and then it prescribed it for the patient 3 times every 5 hours. Measurement of ERG was performed 6, 9, and 24 hours after the iron ion implantation, and it evaluated about the latent time and the amplitude of a wave and a b wave.

[0057] (Result) The result of the rat ERG measurement after iron ion vitreous body impregnation is shown in drawing 1 (a wave amplitude of the rat ERG after iron ion vitreous body impregnation), drawing 2 (b wave latent time of the rat ERG after iron ion vitreous body impregnation), and drawing 3 (b wave amplitude of the rat ERG after iron ion vitreous body impregnation).

[0058] Consequently, in both groups, 6 hours after the iron ion implantation, delay of the latent time of a wave and a b wave and the fall of the amplitude were accepted strongly, and even measurement of 24 hours was not recovered about the amplitude. Compared with the control group, the inclination to suppress the fall of the amplitude of a wave and a b wave was accepted in the measurement 9 hours after an iron ion implantation, and the 2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group had controlled delay of b wave latent time intentionally (drawing 1 - 3 reference).

[0059] From the above result, (Consideration) 2-O-octadecilascorbic acid Since the retina peroxidation reaction by iron ion and change of ERG were controlled The various retina diseases caused by the peroxidation reaction of a retina, for example, diabetes mellitus, Connective tissue disorders, such as hypertension, arteriosclerosis, anemia, leukemia, systemic lupus erythematosus, and a scleroderma, And inborn errors of metabolism, such as a tee-Sachs (Tay-Sacks) disease and a FOKUTO-SHUPIRU Mayer (Vogt-Spielmeyer) disease, etc., In the angiopathy of the retina resulting from a whole body disease, inflammatory and a denaturation lesion, and a row The failure of vasa sanguinea retinae, such as retinopathy of prematurity, occlusion of retinal vein, retinal artery obstruction, and periphebitis retinae, It turned out that it is effective in prevention and the therapies of the disease of a retina part, such as a denaturation disease of the retina accompanying aging, such as inflammation of the retina originating in amotio retinae or a trauma, and denaturation and gerontomorphic disc-like macular degeneration, and a native retina denaturation disease.

[0060] The antioxidation effectiveness of the 2-O-octadecilascorbic acid to the peroxidation reaction caused by performing an optical exposure to the Inn vitro (inch vitro) trial cow retina homogenate using (Examination A) cow retina homogenate of the effectiveness over the retina light failure of example of trial 22-O-octadecilascorbic acid under hematoporphyrin (it being hereafter called HPP for short.) existence was examined.

[0061] (Approach)

(1) To the retina homogenate produced like ((approach) 1) of the above-mentioned example 1 of

a trial (A), HPP (it dissolves by 100microM and ethanol), 2-O-octadecilascorbic acid ($10^{-4}M$), and water were added, and the optical exposure by the fluorescent lamp (daylight color, 15W, 3,000lux) was performed from the distance on 20cm for 1 hour. The ethanol concentration in reaction mixture was adjusted so that 2% of last might come.

(2) Protein determination was performed 1 hour after the optical exposure using the measurement of peroxy lipid and the Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad protein assay Kit) by TBA reaction (trade name) like ((approach) 3) of the above-mentioned example 1 of a trial (A). (Result) The result is shown in Table 3.

[0062]

[Table 3]

	網膜: TBA 反応値 (nM マロンジアルデヒド /mg 蛋白)	抑制率 (%)
ブランク (HPP, 1% エタノール)	0.59 ± 0.10 (3)	100
HPP, 光 (対照)	2.22 ± 0.06 (3)	0
2-O-オクタデシ ルアスコルビン酸 (10^{-4})	1.31 ± 0.21 (3) *	55.8

[0063] (Note) each value of the inside of the above-mentioned table, and a "retina:TBA reaction value" — average ** standard deviation — moreover, the figure in subsequent () shows the number of examples. Moreover, it means that * has a significant difference to contrast. $p < 0.001$.

[0064] The TBA reaction value increased by about 4 times by adding HPP to a cow retina homogenate and performing an optical exposure compared with the blank so that more clearly than the result shown in Table 3. When 2-O-octadecilascorbic acid suspension was made to add and react to coincidence, significant depressor effect was accepted by the concentration of $10^{-4}M$ (the rate of control: about 56%).

[0065]

(B) After carrying out dark adaptation of the evaluation (approach) rat by the in vivo (in vivo) experiment (B-1) retina pathology organization by rat light exposure, and the amount of rhodopsin for 72 hours, continuous irradiation was adjusted and carried out for 12 hours so that an illuminance might be set to 2,000–2,400lux by the green fluorescent lamp (10W, 490–580nm). The optical exposure day carried out internal use of the 1.5% or 5.0% 2-O-octadecilascorbic acid suspension once [1] (respectively 30,100 mg/kg/day) per day a ter die (respectively 90,300 mg/kg/day) and after that, and the control group was similarly medicated with the gum arabic solution (contrast) 5.0%. After exposure termination was bred under the dark room, and it slaughtered on the 5th, after carrying out marking of the right eye to the upper part in ink, it was fixed with the glutaraldehyde solution 2% with the paraformaldehyde 2%, and measurement of the pathology histological evaluation by the light microscope and retina thickness (thickness of all retina layers and thickness of an external granular layer) was performed. As an object for rhodopsin measurement, after the left eye removed the cornea, the lens, and the vitreous body, cryopreservation of it was carried out at -20 degrees C.

[0066] Measurement of rhodopsin carried out the mincement of the **** first under the dark-room red lamp, and prepared the retina homogenate with the 0.1M phosphate buffer solution (pH7.2). Dregs were processed with the potassium-alum solution 4% after centrifugal (for 15,000rpm and 15 minutes), and rhodopsin was extracted by 1% EMARUFOGEN (Emulphogen) BC-720 (trade name) after washing. The centrifugal supernatant liquid was made into the sample, the absorbance in 500nm was measured, after irradiating for 5 minutes and making it faded by

the yellow lamp next, the absorbance (500nm) was measured again and the amount of rhodopsin was computed from the difference of the absorbance before and behind fading (molar extinction coefficient: 42,000).

[0067] (Result) The result of the pathology histological evaluation by the light microscope is shown in Table 4 (5.0% gum arabic solution), 5 (1.5% 2-O-octadecilascorbic acid suspension), and 6 (5.0% 2-O-octadecilascorbic acid suspension). In addition, in the following tables 4-6, the thing in which - is not accepted and for which ++ in which a little ** is accepted, and in which + is accepted is accepted strongly is meant, respectively.

[0068]

[Table 4]

5.0% アラビアゴム溶液 (対照)					
(個体番号)	1	2	3	4	5
網膜色素上皮の空胞化	+	+	+	+	+
視細胞内外節の変形・空胞化	+	++	++	++	++
マクロファージの浸潤	+	++	++	++	++
外顆粒層の核濃縮および核の消失	+	++	++	++	++
網膜全層の菲薄化	-	++	++	++	++

[0069]

[Table 5]

1.5% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液					
(個体番号)	1	2	3	4	5
網膜色素上皮の空胞化	+	+	+	+	+
視細胞内外節の変形・空胞化	++	++	+	++	++
マクロファージの浸潤	++	++	-	++	++
外顆粒層の核濃縮および核の消失	++	++	±	++	++
網膜全層の菲薄化	++	++	-	++	++

[0070]

[Table 6]

5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液			
(個体番号)	1	2	3
網膜色素上皮の空胞化	-	+	+
視細胞内外節の変形・空胞化	±	+	++
マクロファージの浸潤	-	-	++
外顆粒層の核濃縮および核の消失	±	+	++
網膜全層の菲薄化	-	+	++

[0071] So that more clearly than the result shown in Tables 4-6 by the optical failure part (damage section) of a retina By the control group and the 1.5%2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group By four examples, among five examples, respectively by the 5.0% 2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group By one example, infiltration of the macrophage to the inside of disappearance of the pyknosis (pyknosis) and the nucleus of an external granular layer (Outer Nuclear Layer), deformation and vacuolation of a visual cell inside-and-outside knot, and an outer segment and the thinning of all retina layers were strongly accepted among three examples. That is, by the 5.0%2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group, extent of these failures was weak compared with the control group.

[0072] The measurement result of the thickness of all retina layers and the measurement result of the thickness of an external granular layer are shown in Table 7 and 8, respectively.

[0073]

[Table 7]

	網 膜 全 層 の 厚 さ (μM)	
	損傷域	乳頭付近
アラビアゴム溶液 (対照)	81.5 ± 6.5 (5)	121.0 ± 15.9 (5)
1.5%2-O-オクタデ シルアスコルビン酸懸濁液	88.5 ± 22.3 (5)	135.5 ± 27.9 (5)
5.0%2-O-オクタデ シルアスコルビン酸懸濁液	84.2 ± 16.3 (3)	161.7 ± 3.8 (3)*

[0074] (Note) each value of the inside of the above-mentioned table, and "the thickness of all retina layers" — average ** standard deviation — moreover, the figure in subsequent () shows the number of examples. Moreover, it means that * has a significant difference to contrast. $p < 0.05$.

[0075]

[Table 8]

	外 顆 粒 層 の 厚 さ (μM)	
	損傷域	乳頭付近
アラビアゴム溶液 (対照)	17.0 ± 5.1 (5)	25.5 ± 11.5 (5)
1.5%2-O-オクタデ シルアスコルビン酸懸濁液	16.0 ± 7.2 (5)	39.0 ± 8.8 (5)
5.0%2-O-オクタデ シルアスコルビン酸懸濁液	19.2 ± 11.3 (3)	48.3 ± 1.4 (3)

[0076] (Note) each value of the inside of the above-mentioned table, and "the thickness of an external granular layer" — average ** standard deviation — moreover, the figure in subsequent () shows the number of examples.

[0077] In measurement of the thickness of all the retina layers near mammary papilla, as for the 2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group, the thickness of an external granular layer also showed the inclination thicker than a control group near mammary papilla by the 5.0%2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group so that more clearly [compared with a control group, it might be intentionally thick and] than the result shown in

Table 8, so that more clearly than the result shown in Table 7. The measurement result of the amount of retina rhodopsin is shown in Table 9.

[0078]

[Table 9]

	網膜ロドプシン量 (nM/眼)
アラビアゴム溶液 (対照)	0.43 ± 0.19 (5)
1.5% 2-O-オクタデ シルアスコルビン酸懸濁液	0.51 ± 0.20 (5)
5.0% 2-O-オクタデ シルアスコルビン酸懸濁液	0.69 ± 0.14 (3)

[0079] (Note) Each value after "rhodopsin" shows average ** standard deviation among the above-mentioned table, and the figure in subsequent () shows the number of examples.

[0080] In measurement of the amount of retina rhodopsin, the inclination for a 2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group to control reduction of the amount of rhodopsin by optical exposure was seen so that more clearly than the result shown in Table 9.

[0081] (B-2) After carrying out dark adaptation of the evaluation (approach -1) rat by ERG measurement for 24 hours, it adjusted so that an illuminance might be set to 600-700lux by the green fluorescent lamp (490-580nm), and the continuous irradiation of 20 hours was continued for three days. After every day carried out dark adaptation of ERG for after [optical exposure termination] 2 hours, it was measured by continuation for three days, after that, it was bred under the dark room, measured after the exposure on the 7th, and evaluated about the amplitude of a wave and a b wave, and the latent time of a wave. In the optical exposure day, the day of a bis die (200 mg/kg / day) and others carried out internal use of the gum arabic solution (contrast) once [1] (100 mg/kg / day) per day 5.0% as 5.0%2-O-octadecilascorbic acid suspension or contrast from the exposure previous day.

[0082] (Result) The result of the rat ERG measurement after an optical exposure is shown in drawing 4 (b wave amplitude) for three days. Consequently, in the measurement of ERG on the 1st, delay of a wave latent time and the fall of a wave amplitude were accepted. Although the abnormalities of a wave advanced further and the fall of the amplitude of a b wave was newly accepted on the 2nd, by the 5.0%2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group, the inclination which controls the fall of the amplitude of this b wave was accepted (R> drawing 4 4 reference). During the continuation light exposure for three days, although each wave of ERG decreased to progressive, when the exposure was stopped, the latent time of a wave was recovered on the 7th.

[0083] (B-2) Continuation Mitsuteru putting and measurement of back ERG which carried out dark adaptation for 2 hours were performed for the rat by ERG measurement which carried out dark adaptation for evaluation (approach -2) 12 hours on the same conditions as (an approach -1) for 20 hours. Internal use of 5.0%2-O-octadecilascorbic acid suspension or the 5.0% gum arabic solution (contrast) was carried out once [1] (100 mg/kg / day) per day seven days before [the optical exposure], and only the optical exposure day prescribed the bis die (200 mg/kg / day) for the patient.

[0084] (Result) The result of the rat ERG measurement after a 20-hour light exposure is shown in drawing 5 (a wave latent time). Consequently, although, as for the amplitude of a wave and a b wave, both groups fell, the 5.0%2-O-octadecilascorbic acid suspension administration group controlled delay of a wave latent time intentionally (refer to drawing 5).

[0085] (Consideration) From the above result, 2-O-octadecilascorbic acid controlled the tissue

and the functional disorder of a rat retina by optical exposure. Although the failure of the retina by the light in this experiment is a severe example Since light is considered to be one of the risk factor which invites the metabolic turnover functional disorder of various retina diseases, 2-O-octadecilascorbic acid Various retina diseases, for example, diabetes mellitus, hypertension, arteriosclerosis, anemia, Inborn errors of metabolism, such as connective tissue disorders, such as leukemia, systemic lupus erythematosus, and a scleroderma, and a tee-Sachs (Tay-Sacks) disease, and a FOKUTO-SHUPIRU Mayer (Vogt-Spielmeyer) disease, etc., In the angiopathy of the retina resulting from a whole body disease, inflammatory and a denaturation lesion, and a row The failure of vasa sanguinea retinae, such as retinopathy of prematurity, occlusion of retinal vein, retinal artery obstruction, and periphlebitis retinae, It turned out that it is effective in prevention and the therapies of the disease of a retina part, such as a denaturation disease of the retina accompanying aging, such as inflammation of the retina originating in amotio retinae or a trauma, and denaturation and gerontomorphic disc-like macular degeneration, and a native retina denaturation disease.

[0086] The acute toxicity test in a mouse was performed about the acute toxicity test 2-O-octadecilascorbic acid of example of trial 32-O-octadecilascorbic acid. Consequently, the example of death was not seen in 1000 mg/kg internal use. Therefore, this compound is low toxicity.

[0087]

[Effect of the invention] Since prevention and the therapy agent of the retina disease of this invention have the retinopathy depressant action by the outstanding antioxidation operation (free radical elimination operation) and light Various retina diseases, for example, diabetes mellitus, hypertension, arteriosclerosis, anemia, Inborn errors of metabolism, such as connective tissue disorders, such as leukemia, systemic lupus erythematosus, and a scleroderma, and a tee-Sachs (Tay-Sacks) disease, and a FOKUTO-SHUPIRU Mayer (Vogt-Spielmeyer) disease, etc., In the angiopathy of the retina resulting from a whole body disease, inflammatory and a denaturation lesion, and a row The failure of vasa sanguinea retinae, such as retinopathy of prematurity, occlusion of retinal vein, retinal artery obstruction, and periphlebitis retinae, It can use as drugs effective in prevention and the therapies of the disease of a retina part, such as a denaturation disease of the retina accompanying aging, such as inflammation of the retina originating in amotio retinae or a trauma, and denaturation and gerontomorphic disc-like macular degeneration, and a native retina denaturation disease.

[Translation done.]

(11)特許出願公開番号

特開平6-287139

(43)公開日 平成6年(1994)10月11日

(51)Int.Cl. ⁵		識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K	31/375	ABL	7431-4C		
	9/06	G	7329-4C		
		V	7329-4C		
	9/08	V	7329-4C		
	9/20	B	7329-4C		

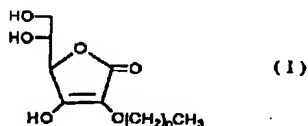
審査請求 未請求 発明の数11 OL (全 13 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平6-10329	(71)出願人	000002934 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(22)出願日	平成6年(1994)2月1日	(71)出願人	000199175 千寿製薬株式会社 大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号
(31)優先権主張番号	特願平5-15645	(72)発明者	加藤 金芳 兵庫県川西市丸山台2丁目2番40号
(32)優先日	平5(1993)2月2日	(72)発明者	栗山 裕 大阪府豊中市上野西1丁目2番29号
(33)優先権主張国	日本(JP)	(72)発明者	中 裕亮 兵庫県神戸市垂水区名谷町字柄立原2035番地 の6 ダイアパレス202号
		(74)代理人	弁理士 青山 葆 (外1名)

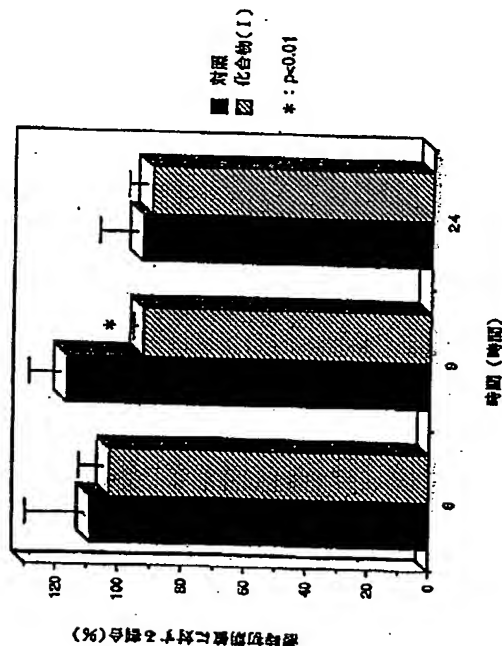
(54)【発明の名称】 網膜疾患の予防および治療剤

(57) 【要約】 (修正有)

【構成】一般式 I (n は 8 から 20 までの整数) で表される化合物を含有することを特徴とする網膜疾患治療剤。



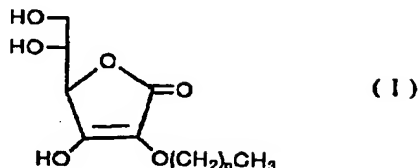
【効果】優れた抗酸化作用及び光による網膜障害抑制作用により、網膜疾患、例えば糖尿病、高血圧症、動脈硬化症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデスや強皮症等の結合組織疾患、テーザックス病やフォークトーシュピールマイヤー病等の先天代謝異常等の全身疾患に起因する網膜血管の障害や炎症性及び変性病変；未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎等の網膜血管の障害、網膜剝離や外傷に由来する網膜の炎症や変性、老人性円盤状黄斑変性症等の加齢に伴う網膜の変性疾患及び先天的な網膜変性疾患等の網膜局所の疾患の予防及び治療に有用である。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式(1)：

【化1】



(式中、nは8から20までの整数を示す)で表される化合物を含有することを特徴とする網膜疾患治療剤。

【請求項2】 網膜疾患治療剤の剤形が経口投与剤である請求項1記載の治療剤。

【請求項3】 網膜疾患治療剤の剤形が錠剤である請求項1記載の治療剤。

【請求項4】 網膜疾患治療剤の剤形が点眼剤である請求項1記載の治療剤。

【請求項5】 網膜疾患治療剤の剤形が眼軟膏剤である請求項1記載の治療剤。

【請求項6】 一般式(1)においてnが9から17である請求項1記載の治療剤。

【請求項7】 一般式(1)においてnが17である請求項6記載の治療剤。

【請求項8】 網膜疾患が全身疾患に起因する網膜疾患である請求項1記載の治療剤。

【請求項9】 全身疾患が、糖尿病、高血圧症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデス、強皮症、ティーザックス病およびフォークトーシュピールマイヤー病から選ばれる1つの疾患である請求項8記載の治療剤。

【請求項10】 網膜疾患が網膜局所の疾患である請求項1記載の治療剤。

【請求項11】 網膜局所の疾患が、未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎、網膜剥離および老人性円盤状黄斑変性症から選ばれる1つの疾患である請求項10記載の治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、網膜疾患の予防および治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】網膜疾患には、その病因、発症様式により様々なものがある。これらの網膜疾患の例としては、たとえば、糖尿病、高血圧症、動脈硬化症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデスや強皮症などの結合組織疾患、およびティーザックス(Tay-Sacks)病やフォークトーシュピールマイヤー(Vogt-Spielemyer)病などの先天代謝異常などの、全身疾患に起因する網膜血管の障害や炎症性および変性病変、ならびに、未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎などの網膜血管の障害、網膜剥離や外傷に由来する網膜の炎症や変性、老人性円盤状黄斑

変性症などの加齢に伴う網膜の変性疾患、および先天的な網膜変性疾患などの、網膜局所の疾患が挙げられる。

【0003】これらの網膜疾患の中、代表的なものについて以下に説明を加える。まず、全身疾患に起因する網膜疾患の中、糖尿病網膜症は、糖尿病の重篤な合併症である糖尿病性細小血管症の1つとして捉えられている。初期には、毛細血管瘤や点状出血、やがて微小血管閉塞による綿花様白斑、血管透過性亢進による網膜浮腫や硬性白斑などが認められ、症状が進むと血管新生を伴う増殖性変化を示し、末期には硝子体内に増殖した結合組織の牽引により網膜剥離が発生し、さらに虹彩ルベオシス、新生血管緑内障を起し失明に至る。

【0004】高血圧症患者の網膜では、高血圧性変化として細動脈の狭細化や出血、滲出斑、網膜および視神経乳頭の浮腫などが認められ、硬化性変化として、細動脈の硬化、動静脈交叉現象、動脈の狭細、口径不同などが認められる。

【0005】白血病における網膜病変としては、網膜静脈の著しい拡大と静脈周囲への浸潤および後極部付近を中心とする種々の大きさの形の出血が認められ、他に結節状白斑、細小血管閉塞による綿花様白斑、網膜浮腫が見られる。

【0006】全身性エリテマトーデスは、皮疹や急性腎炎など全身に病変の現れる自己免疫疾患の1つであるが、網膜では後極付近の綿花様白斑、散在性網膜出血が見られ、他に視神経乳頭浮腫や周辺部血管の炎症が認められることがある。

【0007】ティーザックス(Tay-Sacks)病やフォークトーシュピールマイヤー(Vogt-Spielemyer)病などの先天性代謝異常では、全身症状とともに眼症状を示すことがあり、網膜の症状としてはサクランボ色様赤色斑点(cherry red spot)や色素性病変が代表的で、他に視神経萎縮を合併することがある。

【0008】次に、網膜局所の疾患の中、網膜静脈閉塞症には、閉塞部位により、網膜中心静脈の閉塞と網膜静脈分枝の閉塞とがある。中心静脈閉塞では、視神経乳頭は充血し浮腫を来し、乳頭面にしばしば出血斑が見られる。網膜は浮腫状を呈し、やがて綿花様白斑が現れる。分枝閉塞では、分布領域に放射状の出血が見られ、網膜浮腫、綿花様白斑が現れる。

【0009】網膜動脈閉塞症にも、網膜中心動脈の閉塞と網膜動脈分枝の閉塞とがある。動脈の閉塞が起こると間もなく網膜が僅かに混濁し、数時間で乳白色、浮腫性の網膜混濁が見られる。閉塞後20~30分では不可逆的となり、数週間で上記混濁は消失し、網膜内層は透明なグリア組織で置き換えられる。なお、これら網膜の動静脈閉塞症は全身疾患としての高血圧症や動脈硬化症を基盤に発症することもある。

【0010】網膜静脈周囲炎は、網膜静脈末梢枝に起こ

る炎症性疾患で、静脈の拡大、屈曲、口径動揺、血管周囲滲出斑、出血、血管新生などの所見を認める。

【0011】未熟児網膜症は、未熟児として分娩された赤ん坊が閉鎖式保育器の中に収容され、高濃度の酸素に暴露された結果、血管内皮細胞増殖を伴う不可逆性の閉塞が起こり、やがては硝子体への血管新生や網膜剥離を来す疾患である。

【0012】網膜剥離とは、感覚網膜と網膜色素上皮とが分離する疾患である。これには、網膜の裂孔を原因とする裂孔原性網膜剥離と、他の疾患の経過中あるいはその結果として起こる続発性網膜剥離とがある。これらの網膜剥離は光凝固などの手術療法で早く治療しないと、網膜の変性を来し視力を喪失することになる。

【0013】老人性円盤状黄斑部変性症では、黄斑部において脈絡膜からブルーフ(Bruch)膜を超えて網膜色素上皮下への血管新生があり、新生血管は増殖し、網膜下へも侵入する。これら血管からの漿液性漏出により網膜色素上皮剥離、黄斑部網膜の円盤状剥離を来す。新生血管を含む病巣を中心に出血を繰り返し、次第に病巣は癥瘰化する。

【0014】先天性の網膜色素変性は、幼少期に発病し、夜盲を自覚し、視野狭窄と視力低下が徐々に進行する。眼底変化の特徴は、色素性病変、視神経乳頭の黄色萎縮、網膜血管ごとに動脈の狭細化である。

【0015】以上に挙げた網膜の諸疾患に対する治療法としては、たとえば、全身疾患に起因する網膜疾患では、高血圧症に対しては降圧剤、糖尿病に対しては血糖降下剤の投与など、まず全身における原因療法を適用することが考えられる。しかし、それだけで網膜における病変が軽快するとは限らない。ましてや自己免疫疾患や先天性の代謝異常疾患では原因療法が非常に困難または不可能なこともある。そこで、網膜局所の病変を対象とする治療も必要となって来るが、その場合、たとえば糖尿病や高血圧症あるいは網膜静脈閉塞症・網膜動脈閉塞症における網膜の血管病変に対して、血管拡張剤や血管壁強化剤あるいは血栓溶解剤などの薬物療法が適用される。しかし、これらの薬物療法も対症療法的で決定的なものではなく、しばしば手術療法に頼っているのが現状である。

【0016】

【発明が解決しようとする課題】このように、上記の各網膜疾患の予防および治療剤には未だ決定的なものがないのが現状である。そこで、このような現状に鑑みて、本発明者等は、上記の各網膜疾患の予防および治療剤を求めて鋭意研究を重ねた。

【0017】上記に見てきたように、網膜疾患の病像は多彩であるが、網膜血管の障害や血管新生、網膜の浮腫などの炎症、さらに一次的、二次的に起こる網膜の変性などがあり、いずれも多かれ少なかれ網膜機能の障害をもたらすということが言える。そこで、本発明者等は、

次の2つの観点に立つて研究を進めた。すなわち、まず、上記の各網膜疾患の発症や症状進行の基盤に、虚血および低酸素状態、ならびにそこから惹起される過酸化反応が関与しているのではないかとということ、次に、視覚が光の受容により発揮されるという網膜機能の特殊性に鑑み、過剰な光自身がこれらの各網膜疾患の危険因子の一つとなっているのではないかとという点である。

【0018】第1の観点については、たとえば糖尿病網膜症における血管病変は組織の低酸素または虚血状態に対する反応であるという説が近年有力になりつつあり、また、虚血によって惹起されたと考えられる過酸化反応により患者の血清中の過酸化脂質が上昇したという報告(石川清、忍足正之ら：糖尿病性網膜症における網膜虚血と過酸化脂質(1)、眼紀28(2)：321-325、1977)もある。また、網膜動静脈の閉塞も虚血であり、この場合も過酸化反応が関与していると考えられる。第2の観点については、たとえば遺伝性の網膜変性を起こすラットを光を遮断して飼育することにより変性の進行が抑制されたという報告(ダウリング、ジェイ・イー(Dowling, J. E.)およびシドマン、アール・エル(Sidman, R. L.)、ラットにおける遺伝性網膜変性(inherited retinal dystrophy in the rat)、ジャーナル・オブ・セルバイオロジー(J. Cell Biol.)、14：73-109、1962)がある。このラットの場合、視覚機能を持つ網膜視細胞の外節を更新する網膜色素上皮細胞の貪食機能に異常があるため網膜が変性するのであるが、このような新陳代謝の平衡が破れた状態では、光自身が視細胞の破壊を助長することを示している。また、正常動物でも強度の光照射により網膜変性が起こったという報告(シャヒンファール、エス(Shahinfar, S.)、エドワード、ディー・ピー(Edward, D. P.)およびツォ、オー・エム(Tso, O. M.)：網膜光損傷における光受容体細胞死の病理学的研究(A pathologic study of photoreceptor cell death in retinal photic injury)、カーレント・アイ・リサーチ(Curr. Eye Res.)10(1)：47-59、1991)があり、過剰な光は網膜疾患の危険因子の1つと言える。

【0019】ところで、最近、次のような報告がなされている。すなわち、アスコルビン酸の2位に置換基を有する誘導体の合成および該誘導体が抗酸化作用を有する旨の報告(ヨーロッパ公開特許公報第0146121号参照)、該アスコルビン酸誘導体とそのフリーラジカル消去作用に基づいて抗不整脈、抗心筋梗塞、抗脳梗塞、老人性痴呆症予防など循環器系改善効果を有する旨の報告(ヨーロッパ公開特許公報第0202589号参照)、および、上記アスコルビン酸誘導体の一部が白内障治療効果を有し、そのバイオアベイラビリティや製剤についても検討を加えた旨の報告(特開昭63-301818号公報参照)である。

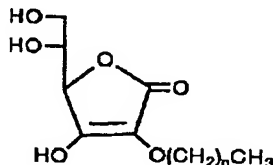
【0020】

【課題を解決するための手段】そこで、本発明者等は、以上のような2つの観点に立つて、第1に網膜の過酸化反応を抑える化合物、第2に光による網膜障害を抑制する化合物を求めて種々の化合物を探索した結果、上記ヨーロッパ公開特許公報第0146121号および第0202589号に記載の化合物の中に予想外に優れた上記両作用を有する化合物が含まれていることを見出し、本発明を完成するに至った。本発明は、(1)一般式

(1) :

【0021】

【化2】



(1)

【0022】(式中、nは8から20までの整数を示す)で表される化合物(以下、本化合物と略称することがある)を含有することを特徴とする網膜疾患治療剤、

(2) 網膜疾患治療剤の剤形が経口投与剤である上記

(1)記載の治療剤、(3) 網膜疾患治療剤の剤形が錠剤である上記(1)記載の治療剤、(4) 網膜疾患治療剤の剤形が点眼剤である上記(1)記載の治療剤、

(5) 網膜疾患治療剤の剤形が眼軟膏剤である上記

(1)記載の治療剤、(6) 一般式(1)においてnが9から17である上記(1)記載の治療剤、(7) 一般式(1)においてnが17である上記(6)記載の治療剤、(8) 網膜疾患が全身疾患に起因する網膜疾患である上記(1)記載の治療剤、(9) 全身疾患が、糖尿病、高血圧症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデス、強皮症、テイーザックス病およびフォークトーシュピールマイヤー病から選ばれる1つの疾患である上記(8)記載の治療剤、(10) 網膜疾患が網膜局所の疾患である上記(1)記載の治療剤、および(11) 網膜局所の疾患が、未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎、網膜剥離および老人性円盤状黄斑変性症から選ばれる1つの疾患である上記(10)記載の治療剤に関する。

【0023】本化合物に関し、nで表される整数としては、9~17であることが好ましく、とりわけ17であることが好ましい。また、D体、L体、これらの混合物のいずれでもよいが、とりわけL体が好ましい。

【0024】なお、本化合物の物理化学的性状およびその製造法等については、前記のヨーロッパ公開特許公報第0146121号に詳細に記載されている。また、本化合物は、下記試験例3でも示されるように、極めて毒性が低いので、本発明により提供される網膜疾患治療剤は安全である。

【0025】本化合物を網膜疾患治療剤として用いる場合、通常、それ自体公知の薬理学的に許容される担体、

賦型剤、希釈剤などと混合し、自体公知の方法に従って、各種の医薬組成物として、経口的に(たとえば錠剤、カプセル剤、顆粒剤など)、または非経口的に(たとえば点眼剤、眼軟膏剤、注射剤など)投与することができる。

【0026】たとえば、経口投与の場合は、通常成人1日当り本化合物を10~500mg、好ましくは50~250mgを錠剤として行う。錠剤は、たとえば下記のプロセスで製造する。本化合物をまずそれ自体を、または希釈剤(ラクトースなど)、結合剤(シロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント、ポリビニルピロリドンなど)、崩壊剤(バレイショ澱粉など)やその他の添加剤と顆粒化する。得られる顆粒に滑剤(ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカなど)を加え、所望の形および大きさに打錠する。

【0027】上記顆粒は、本化合物自体、上記混合物または湿潤剤(ラウリル硫酸ナトリウムなど)を顆粒に成形し、乾燥して製造する。本発明の各投与形態は、さらに他の生理活性物質を含有していてもよい。

【0028】また、本化合物を点眼剤として用いる場合は、約0.001~3%(W/V)、好ましくは約0.01~1%(W/V)の本化合物を基剤溶媒に加え、水溶液または懸濁液とする。点眼剤のpHは約4~10、好ましくは約5~9に調整する。

【0029】本発明の点眼剤は、無菌最終製品とするため滅菌処理することができる。滅菌処理は、点眼剤の製造過程のいかなる工程においても行うことができる。投与に当たっては、患者の状態により1日1~4回、各数滴を点眼する。

【0030】本発明の点眼剤には、緩衝剤(たとえばリン酸塩緩衝剤、ホウ酸塩緩衝剤、クエン酸塩緩衝剤、酒石酸塩緩衝剤、酢酸塩緩衝剤、アミノ酸など)、等張化剤(たとえばソルビトール、グルコース、マンニトールなどの糖類、グリセリン、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなどの多価アルコール類、塩化ナトリウムなどの塩類など)、防腐剤(たとえば塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチルなどのパラオキシ安息香酸エステル類、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、ソルビン酸またはその塩、チメロサル、クロブタノールなど)、pH調整剤(たとえば塩酸、酢酸、リン酸、水酸化ナトリウムなど)、増粘剤(たとえばヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースおよびその塩など)、キレート剤(たとえばエドト酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、縮合リン酸ナトリウムなど)、可溶化剤(たとえばエタノール、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリソルベート80、マクロゴール4000

など)などの各種添加剤を適宜に添加してもよい。

【0031】また、本化合物を眼軟膏剤として用いる場合、本化合物を通常の眼軟膏基剤と濃度約0.001~3% (W/W)、好ましくは約0.01~1% (W/W)になるように混合して製造する。眼軟膏の製造においては、本化合物の粉末化工程や製剤の滅菌工程を含むことが好ましい。眼軟膏は、患者の状態に応じて1日1~4回投与する。

【0032】眼軟膏基剤としては、とりわけ精製ラノリン、白色ワセリン、マクロゴール、プラスチックベース、流動パラフィンなどが適宜に用いられる。

【0033】本発明の網膜疾患治療剤には、本発明の目的に反しないかぎり、さらに他の網膜疾患治療剤の1種または2種以上を適宜加えてもよい。

【0034】また、本発明の網膜疾患治療剤には、本発明の目的に反しないかぎり、上記の治療剤の他に、他の薬効を有する成分を適宜含有させてもよい。

【0035】本発明の網膜疾患治療剤は、後述する試験例より明らかなように、優れた抗酸化作用および光によ

実施例1 錠剤

2-0-オクタデシルアスコルビン酸	50 g
コーンスターチ	90 g
ラクトース	25 g
ヒドロキシプロピルセルロース	25 g
マグネシウムステアレート	5 g
計	195 g

【0038】2-0-オクタデシルアスコルビン酸50gにコーンスターチ90g、ラクトース25gおよびヒドロキシプロピルセルロース25gを加えて顆粒化し、

マグネシウムステアレート5gを加えて打錠して錠剤を得た。成人1人当たり1日1~3錠を毎食後服用する。

【0039】

実施例2 点眼剤

2-0-オクタデシルアスコルビン酸	(W/V%)
ホウ酸	0.1
ホウ砂	1.7
エデト酸ナトリウム	0.4
塩化ベンザルコニウム	0.02
滅菌精製水	0.005
全量	100.0

【0040】ホウ酸17g、ホウ砂4g、エデト酸ナトリウム0.2gおよび塩化ベンザルコニウム0.05gを滅菌精製水800mlに溶かし、さらに2-0-オクタデシルアスコルビン酸1gを加えて水溶液とした。滅菌

精製水を加えて全量1000mlとして濾過した後、点眼瓶に充填して点眼用水溶液とした。

【0041】

実施例3 懸濁点眼剤

2-0-オクタデシルアスコルビン酸	(W/V%)
ポリビニルアルコール	1.0
リン酸1水素ナトリウム(12水塩)	0.5
リン酸2水素ナトリウム(2水塩)	0.5
エデト酸ナトリウム	0.2
塩化ナトリウム	0.02
塩化ベンザルコニウム	0.7
滅菌精製水	0.007
全量	100.0

【0042】ポリビニルアルコール5g、リン酸1水素 50 ナトリウム5g、リン酸2水素ナトリウム2g、エデト

る網膜障害抑制作用を有するので、種々の網膜疾患、たとえば糖尿病、高血圧症、動脈硬化症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデスや強皮症などの結合組織疾患、およびテイーザックス(Tay-Sacks)病やフォクトーシュピールマイヤー(Vogt-Spielelmeyer)病などの先天代謝異常などの、全身疾患に起因する網膜の血管障害や炎症性および変性病変、ならびに、未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎などの網膜血管の障害、網膜剥離や外傷に由来する網膜の炎症や変性、老人性円盤状黄斑変性症などの加齢に伴う網膜の変性疾患、および先天的な網膜変性疾患などの、網膜局所の疾患の予防および治療に有効な薬剤として用いることができる。

【0036】以下に、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明し、試験例により本発明の効果を明らかにするが、これらは単なる例示であって、これらにより本発明の範囲が限定されるものではない。

【0037】

【実施例】

酸ナトリウム0.2 gおよび塩化ナトリウム7 gを滅菌精製水800 mlに溶解させ、滅菌濾過した。2-0-オクタデシルアスコルビン酸10 gおよび塩化ベンザルコニウム0.07 gを無菌条件下、該溶液に加え、攪拌

実施例4 眼軟膏剤

2-0-オクタデシルアスコルビン酸
流動パラフィン
白色ワセリン

(W/W%)

0.5

1.0

全量100.0

【0044】無菌条件下、流動パラフィン1 gと2-0-オクタデシルアスコルビン酸0.5 gを乳鉢でよく混ぜ合わせ、白色ワセリンを練合しながら徐々に加えて全量100 gとした。得られたものをチューブに分配充填し、眼軟膏剤を得た。

【0045】試験例1

2-0-オクタデシルアスコルビン酸の鉄イオンによる網膜過酸化反応に対する効果の検討

(A) ウシ網膜ホモジネートを用いたインビトロ (in vitro) 試験

牛網膜ホモジネートに塩化第1鉄を添加することによって惹起された過酸化反応に対する、2-0-オクタデシルアスコルビン酸の抗酸化効果を検討した。

【0046】(方法)

(1) 牛の眼球(1/2眼)から網膜を分離し、これに生理食塩液を加えて網膜ホモジネートを作製した。

(2) 上記(1)で作製した網膜ホモジネートに、塩化第1鉄(0.5 mM、蒸留水で溶解)、2-0-オクタデシルアスコルビン酸および α -トコフェロールを反応

下滅菌精製水を加えて全量1000 mlとした。得られた懸濁液を点眼瓶に充填して懸濁点眼剤とした。

【0043】

液の最終濃度が 10^{-4} Mになるように添加し、蒸留水で全量を1 mlにした。なお、2-0-オクタデシルアスコルビン酸と α -トコフェロールはエタノールで溶解、希釈し、すべての反応液中のエタノール濃度は、最終1%になるように調整した。その後、37℃で1時間水浴中で反応させた。

(3) 上記(2)で作製した網膜ホモジネートの反応液または標準液に0.35%チオバルビツール酸(以下、TBAと略称する。)試薬(50%酢酸水溶液)1 mlを添加し、100℃沸騰水中で1時間反応させた。水冷却後、n-ブタノール2 mlを添加し、5分間振盪後3000 rpmで10分間遠心し、n-ブタノール層について蛍光強度(励起波長515 nm、測定波長553 nm)を測定した。また、バイオラッド・プロテイン・アッセイ・キット(Bio-Rad protein assay Kit)(商品名)を用いて、蛋白定量を行った。

(結果) その結果を表1に示す。

【0047】

【表1】

		網膜:TBA反応値 (nM マロンジアルデヒド /mg 蛋白)	抑制率 (%)
ブランク(1%エタノール)		0.34 ± 0.01 (2)	100
塩化第1鉄(対照)		5.65 ± 0.13 (3)	0
2-0-オクタデシルアスコルビン酸	10^{-4} M	0.61 ± 0.04 (3) *	94.9
α -トコフェロール	10^{-4} M	2.38 ± 0.12 (3) *	61.6

【0048】(注) 上記表中、「網膜:TBA反応値」の各値は平均値±標準偏差を、またその後の()内の数字は例数を示す。また、*は対照に対して有意差があることを意味する。 $p < 0.001$ 。

【0049】表1に示した結果より明らかなように、牛網膜ホモジネートに塩化第1鉄を添加することによって、TBA反応値はブランクに比べて約17倍に増加した。同時に2-0-オクタデシルアスコルビン酸を加えて反応させた場合は、 10^{-4} Mの低濃度で、 α -トコフェロールと比較して、格段優れた網膜ホモジネートの過

酸化抑制作用を示した。

【0050】(B) ラット硝子体内鉄イオン注入によるインビボ(in vivo)試験

(B-1) 網膜TBA反応値による評価

ラットの硝子体内に硫酸第1鉄を注入することによって惹起された網膜の過酸化反応に対する、2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液(30 mg/kg)の経口投与の抗酸化効果を検討した。

【0051】(方法) 前日より絶食させた7週齢のSDラットを2群に分け、1群には5%アラビアゴム溶液

(対照)を、2群には1.5%2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液(30mg/kg)をそれぞれ2ml/kgを3回に分けて経口投与した。1回目投与の2時間後にラットを塩酸ケタールで全身麻酔し、左眼に5mM硫酸第一鉄溶液を、右眼には生理食塩液をそれぞれ5μlずつマイクロシリンジを用いて硝子体内に注入した。注入の1、4時間後に2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液または5%アラビアゴム溶液を再び投

与し、3回目投与の2時間後(鉄イオン注入から6時間後)に屠殺した。次に、眼球を摘出後、各眼から網膜ホモジネートを調製し、TBA反応量とタンパク量を測定した。

(結果) その結果を表2に示す。

【0052】

【表2】

	網膜：TBA反応値 (nM マロンジアルデヒド/mg 蛋白)	
	右 眼	左 眼
アラビアゴム溶液(対照)	0.48 ± 0.14 (5)	0.65 ± 0.06 (5)
1.5%2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液	0.36 ± 0.06 (6)	0.47 ± 0.11 (6) *

【0053】(注) 上記表中、「網膜：TBA反応値」の各値は平均値±標準偏差を、またその後の()内の数字は例数を示す。また、*は対照に対して有意差があることを意味する。p<0.01。

【0054】表2に示した結果より明らかなように、1.5%2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液(30mg/kg)の経口投与は、硝子体内鉄イオン注入による網膜中のTBA反応値の増加を有意に抑制した。5%アラビアゴム溶液投与群の生理食塩液注入の5眼中2眼で、注入操作中に生じたと思われる多量の硝子体内出血が認められ、それらのTBA反応値は他の生理食塩液注入眼に比べて高い値を示した。

【0055】(B-2) 網膜電位図(Electroretinogram。以下、ERGと略称する。)測定による評価
ラットの硝子体に硫酸第一鉄を注入することによって惹起された網膜ERGの変化に対する、2-0-オクタデシルアスコルビン酸(30mg/kg)の経口投与の効果を検討した。

【0056】(方法) 7週齢のSDラット12匹を前日より絶食させ、左眼に7.5mM硫酸第一鉄溶液を5μl硝子体内に注入した。1.5%2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液(30mg/kg)または5%アラビアゴム溶液(対照)は、鉄イオン注入2時間前に1回目の経口投与を行い、その後は3時間おきに3回投与し、次に5時間おきに3回投与した。ERGの測定は、鉄イオン注入の6、9および24時間後に行い、a波およびb波の潜時と振幅について評価した。

【0057】(結果) 鉄イオン硝子体注入後のラットERG測定の結果を、図1(鉄イオン硝子体注入後のラットERGのa波振幅)、図2(鉄イオン硝子体注入後のラットERGのb波潜時)および図3(鉄イオン硝子体注入後のラットERGのb波振幅)に示す。

【0058】その結果、両群において、鉄イオン注入6時間後から、a波およびb波の潜時の遅延と振幅の低下が強く認められ、振幅については24時間の測定でも回復しなかった。2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群は、対照群に比べて、鉄イオン注入9時間後の測定において、a波およびb波の振幅の低下を抑える傾向が認められ、b波潜時の遅延を有意に抑制していた(図1~3参照)。

【0059】(考察) 以上の結果より、2-0-オクタデシルアスコルビン酸は、鉄イオンによる網膜過酸化反応およびERGの変化を抑制したので、網膜の過酸化反応により惹起される種々の網膜疾患、たとえば糖尿病、高血圧症、動脈硬化症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデスや強皮症などの結合組織疾患、およびテイヤックス(Tay-Sacks)病やフォークトーシュピールマイヤー(Vogt-Spielmeyer)病などの先天代謝異常などの、全身疾患に起因する網膜の血管障害や炎症性および変性病変、ならびに、未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎などの網膜血管の障害、網膜剥離や外傷に由来する網膜の炎症や変性、老人性円盤状黄斑変性症などの加齢に伴う網膜の変性疾患、および先天的な網膜変性疾患などの、網膜局所の疾患の予防および治療に有効であることが判った。

【0060】試験例2

2-0-オクタデシルアスコルビン酸の網膜光障害に対する効果の検討

(A) ウシ網膜ホモジネートを用いたイン・ビトロ(in vitro)試験

牛網膜ホモジネートにヘマトポルフィリン(以下、HPPと略称する。)存在下で光照射を行うことによって惹起された過酸化反応に対する、2-0-オクタデシルア

スコルビン酸の抗酸化効果を検討した。

【0061】(方法)

(1) 上記試験例1(A)の(方法)(1)と同様にして作製した網膜ホモジネートに、HPP(100 μ M、エタノールで溶解)、2-O-オクタデシルアスコルビン酸(10⁻⁴M)および水を添加し、20cm上の距離から蛍光灯(昼光色、15W、3,000lux)による光照射を1時間行った。反応液中のエタノール濃度は、最終2%となるように調整した。

	網膜:TBA反応値 (nM マロンジアルデヒド /mg 蛋白)	抑制率 (%)
ブランク(HPP, 1%エタノール)	0.59 \pm 0.10 (3)	100
HPP, 光(対照)	2.22 \pm 0.06 (3)	0
2-O-オクタデシ ルアスコルビン酸 (10 ⁻⁴)	1.31 \pm 0.21 (3) *	55.8

【0063】(注) 上記表中、「網膜:TBA反応値」の各値は平均値 \pm 標準偏差を、またその後の()内の数字は例数を示す。また、*は対照に対して有意差があることを意味する。p<0.001。

【0064】表3に示した結果より明らかなように、牛網膜ホモジネートにHPPを添加して光照射を行うことによって、TBA反応値はブランクに比べて約4倍に増加した。同時に2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液を加えて反応させた場合は、10⁻⁴Mの濃度で有意な抑制効果が認められた(抑制率:約56%)。

【0065】

(B) ラット光照射によるインビボ(in vivo)実験

(B-1) 網膜病理組織およびロドプシン量による評価

(方法) ラットを72時間暗順応させた後、緑色蛍光灯(10W、490~580nm)で照度が2,000~2,400luxになるように調整して、12時間連続照射した。1.5%または5.0%2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液を、光照射日は1日3回(それぞれ90、300mg/kg/day)、その後は1日1回(それぞれ30、100mg/kg/day)経口投与し、対照群には5.0%アラビアゴム溶液(対照)を同様に投与した。照射終了後は、暗室下で飼育し、5日目に屠殺して、右眼は上部にインクでマーキングした後、2%パラホルムアルデヒドと2%グルタルアルデ

(2) 光照射1時間後、上記試験例1(A)の(方法)

(3)と同様にして、TBA反応による過酸化脂質の測定とバイオラッド・プロテイン・アッセイ・キット(Bio-Rad protein assay Kit)(商品名)を用いて、蛋白定量を行った。

(結果) その結果を表3に示す。

【0062】

【表3】

ヒド溶液で固定し、光顕による病理組織学的評価と網膜厚(網膜全層の厚さおよび外顆粒層の厚さ)の測定を行った。左眼はロドプシン測定用として、角膜・水晶体・硝子体を除去した後、-20℃で凍結保存した。

【0066】ロドプシンの測定は、暗室赤色ランプ下で、まず眼盂を細切りし、0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.2)で網膜ホモジネートを調製した。遠心(15,000rpm, 15分間)後、沈渣を4%カリウムミョウバン溶液で処理し、洗浄後、1%エマルフォゲン(Emulphogen)BC-720(商品名)でロドプシンを抽出した。その遠心上清を試料とし500nmにおける吸光度を測定し、次に黄色ランプで5分間照射して退色させた後、再び吸光度(500nm)を測定して退色前後の吸光度の差からロドプシン量を算出した(分子吸光係数:42,000)。

【0067】(結果) 光顕による病理組織学的評価の結果を、表4(5.0%アラビアゴム溶液)、表5(1.5%2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液)および表6(5.0%2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液)に示す。なお、下記の表4~6において、-は認められない、±は少し認められる、+は認められる、++は強く認められる、ことをそれぞれ意味する。

【0068】

【表4】

5.0% アラビアゴム溶液 (対照)					
(個体番号)	1	2	3	4	5
網膜色素上皮の空胞化	+	+	+	+	+
視細胞内外節の変形・空胞化	+	++	++	++	++
マクロファージの浸潤	+	++	++	++	++
外顆粒層の核濃縮および核の消失	+	++	++	++	++
網膜全層の菲薄化	-	++	++	++	++

【0069】

【表5】

1.5% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液					
(個体番号)	1	2	3	4	5
網膜色素上皮の空胞化	+	+	+	+	+
視細胞内外節の変形・空胞化	++	++	+	++	++
マクロファージの浸潤	++	++	-	++	++
外顆粒層の核濃縮および核の消失	++	++	±	++	++
網膜全層の菲薄化	++	++	-	++	++

【0070】

【表6】

5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液			
(個体番号)	1	2	3
網膜色素上皮の空胞化	-	+	+
視細胞内外節の変形・空胞化	±	+	++
マクロファージの浸潤	-	-	++
外顆粒層の核濃縮および核の消失	±	+	++
網膜全層の菲薄化	-	+	++

【0071】表4～6に示した結果より明らかなように、網膜の光障害部位（損傷部）では、対照群および1.5% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群では、それぞれ5例中4例で、5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群では、3例中1例で、外顆粒層(Outer Nuclear Layer)の核濃縮(pyknosis)・核の消失、視細胞内外節の変形・空胞化、外節中へのマクロファージの浸潤および網膜全層の菲薄化が強

く認められた。すなわち、5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群では、これらの障害の程度が対照群に比べて弱かった。

【0072】表7および表8に、網膜全層の厚さの測定結果および外顆粒層の厚さの測定結果をそれぞれ示す。

【0073】

【表7】

	網膜全層の厚さ (μM)	
	損傷域	乳頭付近
アラビアゴム溶液 (対照)	81.5 \pm 6.5 (5)	121.0 \pm 15.9 (5)
1.5% 2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液	88.5 \pm 22.3 (5)	135.5 \pm 27.9 (5)
5.0% 2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液	84.2 \pm 16.3 (3)	161.7 \pm 3.8 (3)*

【0074】 (注) 上記表中、「網膜全層の厚さ」の各値は平均値 \pm 標準偏差を、またその後の () 内の数字は例数を示す。また、*は対照に対して有意差があるこ

とを意味する。 $p < 0.05$ 。

【0075】

【表8】

	外顆粒層の厚さ (μM)	
	損傷域	乳頭付近
アラビアゴム溶液 (対照)	17.0 \pm 5.1 (5)	25.5 \pm 11.5 (5)
1.5% 2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液	16.0 \pm 7.2 (5)	39.0 \pm 8.8 (5)
5.0% 2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液	19.2 \pm 11.3 (3)	48.3 \pm 1.4 (3)

【0076】 (注) 上記表中、「外顆粒層の厚さ」の各値は平均値 \pm 標準偏差を、またその後の () 内の数字は例数を示す。

【0077】 表7に示した結果より明らかなように、乳頭付近の網膜全層の厚さの測定において、5.0% 2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群では、対照群に比べて有意に厚く、また表8に示した結果より明

らかなように、外顆粒層の厚さも乳頭付近で、2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群は、対照群よりも厚い傾向を示した。表9に、網膜ロドプシン量の測定結果を示す。

【0078】

【表9】

	網膜ロドプシン量 (nM/眼)
アラビアゴム溶液 (対照)	0.43 \pm 0.19 (5)
1.5% 2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液	0.51 \pm 0.20 (5)
5.0% 2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液	0.69 \pm 0.14 (3)

【0079】 (注) 上記表中、「ロドプシン」の後の各値は平均値 \pm 標準偏差を、またその後の () 内の数字は例数を示す。

【0080】 表9に示した結果より明らかなように、網

膜ロドプシン量の測定において、2-0-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群は、光照射によるロドプシン量の減少を抑制する傾向が見られた。

【0081】 (B-2) ERG測定による評価

(方法-1) ラットを24時間暗順応させた後、緑色蛍光灯(490~580nm)で照度が600~700 luxになるように調整して、20時間の連続照射を3日間続けた。ERGは、毎日の光照射終了後2時間暗順応させた後に3日間連続で測定し、その後は暗室下で飼育して照射後7日目に測定を行い、a波およびb波の振幅とa波の潜時について評価した。照射前日より5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液または対照として5.0%アラビアゴム溶液(対照)を、光照射日は1日2回(200mg/kg/日)、その他の日は1日1回(100mg/kg/日)経口投与した。

【0082】(結果)3日間光照射後のラットERG測定の結果を図4(b波振幅)に示す。その結果、1日目のERGの測定では、a波潜時の遅延とa波振幅の低下が認められた。2日目には、a波の異常はさらに進行し、新たにb波の振幅の低下が認められたが、5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群ではこのb波の振幅の低下を抑制する傾向が認められた(図4参照)。3日間の連続光照射中、ERGの各波は進行性に減弱したが、照射を止めるとa波の潜時は7日目には回復していた。

【0083】(B-2)ERG測定による評価

(方法-2)12時間暗順応させたラットを、(方法-1)と同様の条件で20時間連続光照射し、2時間暗順応させた後ERGの測定を行った。5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液または5.0%アラビアゴム溶液(対照)を、光照射7日前から1日1回(100mg/kg/日)経口投与し、光照射日のみ1日2回(200mg/kg/日)の投与を行った。

【0084】(結果)20時間光照射後のラットERG測定の結果を図5(a波潜時)に示す。その結果、a波およびb波の振幅は両群とも低下したが、a波潜時の遅延を5.0% 2-O-オクタデシルアスコルビン酸懸濁液投与群は有意に抑制した(図5参照)。

【0085】(考察)以上の結果より、2-O-オクタデシルアスコルビン酸は、光照射によるラット網膜の組織および機能障害を抑制した。本実験における光による網膜の障害は過酷な例であるが、光は種々の網膜疾患の代謝機能障害を招来する危険因子の一つと考えられるので、2-O-オクタデシルアスコルビン酸は、種々の網膜疾患、たとえば糖尿病、高血圧症、動脈硬化症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデスや強皮症などの結合組織疾患、およびテイーザックス(Tay-Sacks)病やフォークト-シュピールマイヤー(Vogt-Spielmeyer)病などの先天代謝異常などの、全身疾患に起因する網膜の血管障害や炎症性および変性病変、ならびに、未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎などの網膜血管の障害、網膜剥離や外傷に由来する網膜の炎症や変性、老人性円盤

状黄斑変性症などの加齢に伴う網膜の変性疾患、および先天的な網膜変性疾患などの、網膜局所の疾患の予防および治療に有効であることが判った。

【0086】試験例3

2-O-オクタデシルアスコルビン酸の急性毒性試験
2-O-オクタデシルアスコルビン酸について、マウスにおける急性毒性試験を行った。その結果、1000mg/kg経口投与においても死亡例は見られなかった。従って、この化合物は低毒性である。

【0087】

【発明の効果】本発明の網膜疾患の予防および治療剤は、優れた抗酸化作用(フリーラジカル消去作用)および光による網膜障害抑制作用を有するので、種々の網膜疾患、たとえば糖尿病、高血圧症、動脈硬化症、貧血症、白血病、全身性エリテマトーデスや強皮症などの結合組織疾患、およびテイーザックス(Tay-Sacks)病やフォークト-シュピールマイヤー(Vogt-Spielmeyer)病などの先天代謝異常などの、全身疾患に起因する網膜の血管障害や炎症性および変性病変、ならびに、未熟児網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜動脈閉塞症、網膜静脈周囲炎などの網膜血管の障害、網膜剥離や外傷に由来する網膜の炎症や変性、老人性円盤状黄斑変性症などの加齢に伴う網膜の変性疾患、および先天的な網膜変性疾患などの、網膜局所の疾患の予防および治療に有効な薬剤として用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】試験例1(B-2)における、鉄イオン硝子体注入後のラットERGのa波振幅を示すグラフである。横軸は時間(時間)を、縦軸は振幅初期値に対する割合(%)を示す。なお、図1から図5中、化合物(I)は2-O-オクタデシルアスコルビン酸を意味する。

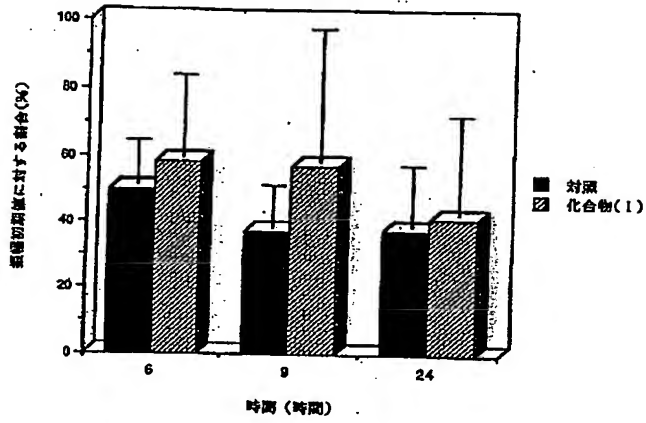
【図2】試験例1(B-2)における、鉄イオン硝子体注入後のラットERGのb波潜時を示すグラフである。横軸は時間(時間)を、縦軸は潜時初期値に対する割合(%)を示す。

【図3】試験例1(B-2)における、鉄イオン硝子体注入後のラットERGのb波振幅を示すグラフである。横軸は時間(時間)を、縦軸は振幅初期値に対する割合(%)を示す。

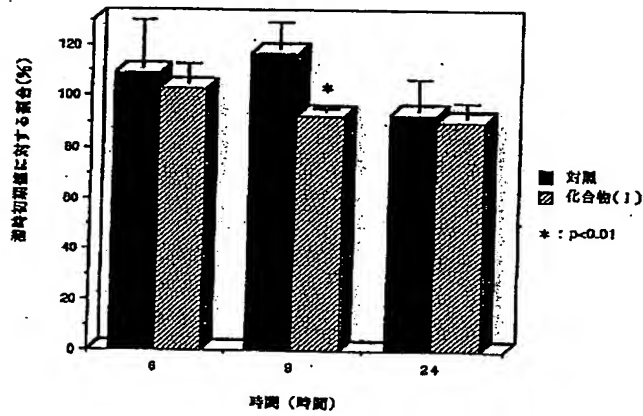
【図4】試験例2(B-2)(方法1)における、3日間光照射後のラットERGのb波振幅を示すグラフである。横軸は光照射後の時間(日)を、縦軸はb波振幅(mV)を示す。

【図5】試験例2(B-2)(方法2)における、20時間光照射後のラットERGのa波潜時を示すグラフである。横軸は光照射後の時間(日)を、縦軸はa波潜時(msec)を示す。

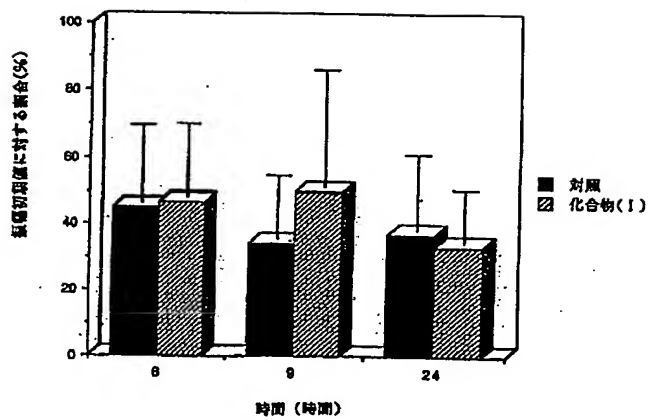
【図1】



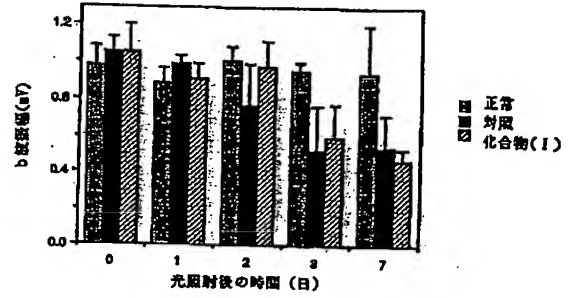
【図2】



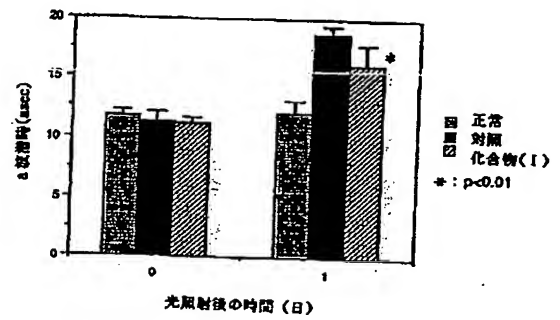
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁵
// C 0 7 D 307/62

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所